

ISTRUZIONI PER L'USO

GARDNERELLA ANTIMICROBIC SUPPLEMENT

Supplemento selettivo liofilizzato

1 - DESTINAZIONE D'USO

Diagnostico *in vitro*. Miscela di sostanze antimicrobiche da aggiungere al terreno Columbia Agar Base per l'isolamento di *Gardnerella vaginalis* da campioni clinici.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA**CONTENUTO DEL FLACONE PER 500 ML DI TERRENO**

Gentamicina solfato	2 mg
Acido nalidissico, sale sodico	15 mg
Anfotericina B	1 mg

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

G. vaginalis è un bacillo anaerobio facoltativo, non mobile, pleomorfo, Gram-negativo o Gram-variabile, ossidasi e catalasi negativo. La flora vaginale normale è caratterizzata dalla presenza di soli lattobacilli o dalla presenza di un piccolo numero di morfotipi di *G. vaginalis*; il cambiamento della flora vaginale associato a vaginosi batterica è caratterizzato da una diminuzione del numero di lattobacilli, che vengono sostituiti da una flora mista di specie aerobiche, anaerobiche e microaerofile, tra cui *G. vaginalis*.¹

La diagnosi di vaginosi batterica si basa sui criteri di Amsel, considerati accurati al 90%, con la presenza di tre o quattro dei seguenti reperti: 1) secrezione vaginale sottile, omogenea, bianca o gialla, 2) odore di ammina (pesce) quando la soluzione di idrossido di potassio viene aggiunta alla secrezione vaginale (comunemente chiamato "whiff test"), 3) epitelio vaginale coperto da bastoncini Gram negativi (più del 20% di cellule "traccia"), 4) pH vaginale maggiore di 4.5.² L'isolamento di *G. vaginalis* dal tampone vaginale può supportare la diagnosi di vaginosi batterica.³

Gardnerella Antimicrobial Supplement si basa sull'uso dei composti selettivi proposti da Ison.⁴ La gentamicina è efficace sia contro gli organismi Gram-positivi che Gram-negativi diversi da *G. vaginalis*, l'acido nalidixico è inibitorio principalmente contro i batteri Gram-negativi, con una minore attività verso i Gram positivi, l'amfotericina B è un agente antimicotico. Gardnerella Antimicrobial Supplement può essere utilizzato per la preparazione dei terreni di isolamento utilizzando Columbia Agar Base e sangue di montone, cavallo, coniglio o umano.^{4,5}

4 - METODO DI RICOSTITUZIONE E DI PREPARAZIONE DEL TERRENO

Ricostituire il contenuto di una fiala di Gardnerella Antimicrobial Supplement con 2 mL di una miscela 1:1 (v/v) di etanolo e acqua purificata sterile, usando le precauzioni dell'asepsi. Aggiungere a 500 mL di Columbia Agar Base (REF 401136), sterilizzato in autoclave e raffreddato a 47-50°C, in condizioni asettiche, insieme al 25-50 mL di sangue defibrinato sterile di montone o di cavallo o di coniglio o umano. Mescolare bene e distribuire in piastre Petri sterili.

5 - CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto del liofilizzato pastiglia bassa, compatta, gialla
Aspetto della soluzione opalescente gialla

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Gardnerella Antimicrobial Supplement	Supplemento liofilizzato	4240019	10 flaconi, ciascuno per 500 mL di terreno

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Columbia Agar Base (REF 401136), sangue umano o di coniglio o di cavallo o di pecora, etanolo, autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, anse e tamponi sterili, matracci Erlenmeyer, generatori e giare di CO₂ o incubatore di CO₂ con umidificatore, terreni di coltura ausiliari e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

Le piastre preparate con Columbia Agar Base, Gardnerella Antimicrobial Supplement e sangue defibrinato possono essere inoculate direttamente con campioni vaginali ed extra-vaginali raccolti con un tampone di cotone.⁶ È consigliabile prelevare un tampone per l'esame diretto e un altro per la coltura. Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici; per ulteriori informazioni, consultare i riferimenti appropriati.⁶

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.

Ruotare il tampone con il quale è stato raccolto il campione su un'area ristretta accanto al bordo della piastra, quindi strisciare con un'ansa sterile sui quattro quadranti per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate.

Incubare a 35-37°C per 44-48 ore in atmosfera con CO₂ al 5-7%

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie.

G. vaginalis sviluppa colonie beta-emolitiche su terreni contenenti sangue umano o di coniglio, ma non su agar sangue di montone o di cavallo.⁵ L'aggiunta di Tween 80 (0,02% v/v) al terreno contenente sangue umano migliora l'emolisi e aumenta la crescita.⁵





11 - CONTROLLO DI QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accredimento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>G.vaginalis</i> ATCC 14018	35-37°C / 48H / CO ₂	crescita
<i>C.albicans</i> ATCC 18804	35-37°C / 48H / CO ₂	crescita inibita
<i>E.faecalis</i> ATCC 19433	35-37°C / 48H / CO ₂	crescita inibita

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di Gardnerella Antimicrobic Supplement aggiunto a Columbia Agar Base insieme al 10% di sangue defibrinato di montone, viene testato per la produttività e la selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato. Le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con i ceppi target *G.vaginalis* 49145 e ATCC 14018. Dopo l'incubazione a 35-37°C per 48 ore in atmosfera di CO₂ al 5-10%, viene valutata e registrata la quantità di crescita. I ceppi mostrano una buona crescita con colonie non emolitiche. La selettività viene valutata con metodo Miles Misra modificato inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione 0.5 McFarland degli organismi non-target *E.coli* ATCC 25922, *P.mirabilis* ATCC 10005, *E.faecalis* ATCC 19433, *S.aureus* ATCC 25923, *L.acidophilus* ATCC 314, *C.albicans* ATCC 18804. Dopo incubazione a 35-37°C per 48 ore, la crescita di *P.mirabilis* è parzialmente inibita, mentre quella degli altri ceppi non-target è totalmente inibita.

13 - LIMITI DEL METODO

- Il ritrovamento di *G. vaginalis* in un campione vaginale non indica necessariamente che l'organismo isolato sia la causa dell'infezione.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se richiesto e pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il supplemento qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente; consultare la Scheda di Sicurezza prima dell'uso.
- Il supplemento ed il terreno di base devono essere usati in associazione secondo le indicazioni sopra descritte. Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Il supplemento qui descritto è sottoposto a sterilizzazione per filtrazione.
- Porre molta attenzione nell'apertura della ghiera metallica per evitare lesioni.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il supplemento, i terreni di coltura e con gli agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione; smaltire il supplemento non utilizzato ed i terreni di coltura seminati con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il supplemento qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano e animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Comunicare a Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) ed alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta; non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto il flacone e ricostituito il liofilizzato, la soluzione ottenuta deve essere usata immediatamente. Esaminare il prodotto liofilo ed il prodotto ricostituito al momento dell'uso e scartare se vi fossero segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, colore alterato o altra caratteristica anomala).

L'utilizzatore è responsabile del processo di produzione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia (piastre/provette/) e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento).

16 - BIBLIOGRAFIA

1. Public Health England. Investigation of Genital Tract and Associated Specimens. UK Standards for Microbiology Investigations. 2017, B 28 Issue 4.6.
2. Colonna C, Steelman M. Amsel Criteria. InStatPearls. StatPearls Publishing; Last update, July 1, 2019
3. Funke G, Bernard KA. Coryneform Gram-Positive Cocci. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.474
4. Ison CA, Dawson SG, Hilton J, Csonka GW, Easmon CSF. Comparison of culture and microscopy in the diagnosis of Gardnerella vaginalis infection. J. Clin. Pathol 1982; 35:550
5. Catlin BV. Gardnerella vaginalis: characteristics, clinical considerations, and controversies. ClinMicrobiol Rev 1992; 5:213
6. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.



GARDNERELLA ANTIMICROBIC SUPPLEMENT REF 4240019

SDS rev 5

Regolamento (UE) 2020/878

Componenti pericolosi della miscela: acido nalidissico sale sodico, gentamicina solfato, anfotericina B
Classificazione

Tossicità acuta, categoria 4

H302 Nocivo se ingerito.

Tossicità specifica per organi bersaglio -esposizione singola, categoria 3

H335 Può irritare le vie respiratorie.

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

Etichettatura

Pittogramma



Avvertenza Attenzione

Indicazioni di pericolo

H302 Nocivo se ingerito.

H335 Può irritare le vie respiratorie.

H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.

Consigli di prudenza:

P280 Indossare guanti protettivi.

P261 Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI / un medico / . . .

P403+P233 Tenere il recipiente ben chiuso e in luogo ben ventilato.

P264 Lavare accuratamente . . . dopo l'uso.

P362+P364 Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF o REF Numero di catalogo	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Lato superiore	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le istruzioni per l'Uso	 Utilizzare entro	 Fragile maneggiare con cura	 Proteggere dalla luce diretta

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 0	First issue	11/2022
Revisione 1	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

